Micrococcus ochroleucus

eine neue chromogene Spaltpilzform

von

Oscar Prove,
gepr. Lehramtscandidat für Landwirthschaft.
München.

Inaugural-Dissertation,

zum Zwecke der

Erlangung der Doctorwürde

eingereicht bei der

philosophischen Facultät

der

Universität Freiburg i. Br.

und von dieser approbirt.

Breslau,
Druck von Robert Nischkowsky.
1887.

Micrococcus ochroleucus

eine neue chromogene Spaltpilzform

von

Oscar Prove,
gepr. Lehramtscandidat für Landwirthschaft.
München.

Inaugural-Dissertation,

zum Zwecke der

Erlangung der Doctorwürde

eingereicht bei der

philosophischen Facultät

der

Universität Freiburg i. Br.

und von dieser approbirt.

Breslau,
Druck von Robert Nischkowsky.
1887.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550827_0011

Micrococcus ochroleucus

eine neue chromogene Spaltpilzform,

von

Oskar Prove in München.

Mit Tafel XVII.

Im Verlaufe der letzten Decennien sind die Spaltpilze für die verschiedensten wissenschaftlichen und praktischen, insbesondere für die hygienischen und landwirthschaftlichen Zweige von ausserordentlicher Wichtigkeit geworden.

Trotz einer ungemein grossen Zahl bereits ausgeführter Arbeiten ist in dem höchst schwierigen Gebiete noch sehr Vieles dunkel geblieben und es bedarf daher kaum einer Begründung, wenn in vorliegender Arbeit der Versuch gemacht wurde, bei einem dieser Spaltpilze, einer neu entdeckten chromogenen Art, die Lebens- und Funktionsbedingungen desselben genau zu erforschen und vor Allem nachzuweisen, ob durch verschiedene Kombinationen von Nährstoffen, Licht und Wärme er in seinen Formen, in seinen Excretionen und in seiner Entwickelung überhaupt und in welchem Grade Variationen zeigt.

Die der Arbeit zu Grunde gelegten Hauptfragen sind folgende:

Bleibt der *Micrococcus* stets ein solcher, oder wird es möglich, aus ihm ein Bacterium, einen Bacillus oder eine andere Spaltpilzform zu erzielen?

Welcher Form der Vermehrung und Fortpflanzung bedient sich der Pilz unter verschiedenen äusseren Verhältnissen zu seiner Erhaltung?

Wie verhält es sich unter angemessenen Variationen der Vegetationsverhältnisse mit dessen Farbstoff; bleibt derselbe stets gelb, so wie er ursprünglich gefunden wurde, oder verändert er sich so, dass eine andere Farbe entsteht, oder kann er unter Umständen völlig ausbleiben?

Die zur Gruppe der „chromogenen Spaltpilze“ gehörenden Formen der niederen Organismen besitzen, wie schon die Bezeichnung sagt, die Fähigkeit, während ihres Lebens unter gewissen Verhältnissen ein intensiv gefärbtes, nachgewiesenermaassen häufig stickstoffhaltiges Pigment abzuscheiden.

Auf welche Art diese Abscheidung geschieht, ferner ob das betreffende Pigment der Membran, oder dem Zellinhalt oder den die Zellen umgebenden Schleimmassen eigen ist, darüber sind bei den meisten Arten die Untersuchungen noch nicht so weit gediehen, dass ein endgültiges Urtheil abgegeben werden könnte.

Auch über die chemische Natur dieser Pigmente herrscht noch viel Ungewissheit, da bis jetzt noch keines derselben in grösserer Menge dargestellt und chemisch genauer studirt wurde.

Aus den bis jetzt über sie vorliegenden Untersuchungen [1]) scheint hervorzugehen, dass einige derselben mit den Anilinfarben verwandt sind, da sie in ihrem chemischen und insbesondere spektroskopischen Verhalten einige Aehnlichkeit mit den Anilinpigmenten zeigen. So verräth z. B. der vom *Micrococcus prodigiosus* abgesonderte rothe Farbstoff in seinen chemischen Reactionen und vor dem Spektroskop einige Aehnlichkeit mit einer rothen Fuchsinlösung [2]).

Andere Pigmente wiederum sind in ihren Reaktionen augenscheinlich den Indigofarben sehr nahe stehend, wie es z. B. mit dem blauen Farbstoff des *Bacillus cyanogenus* der Fall zu sein scheint [3]).

Dass die Pigmentabsonderung an gewisse ziemlich genau bekannte Bedingungen geknüpft ist, wurde bereits für einige Arten experimentell erhärtet.

Bei einigen Formen üben die Zusammensetzung des Nährbodens und dessen Reactionen einen tiefeingreifenden Einfluss auf die Pigmentabsonderung aus. So fand z. B. Hueppe für den *Bacillus cyanogenus* [4]), dass derselbe in sauer reagirender Milch auf Kosten der

---

[1]) Erdmann, Bildung von Anilinfarben aus Proteinkörpern.

Erdmann und Werther, Journal für praktische Chemie 1866. pag. 385 bis 407.

Schroeter, Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente; Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Band, 2. Heft. pag. 117—118; 121 bis 122.

[2]) Schroeter, Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente; Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Band, 2. Heft. pag. 118.

[3]) Nach einer privaten Mittheilung des Herrn Dr. Eugling, Director der vorarlberg. landwirthschaftl. Versuchsstation stimmt der fragliche Farbstoff in seinen chemischen Reactionen genau mit Indigofarben überein.

[4]) Hueppe, Untersuchungen über die Zersetzungen der Milch durch Mikroorganismen.

stickstoffhaltigen Bestandtheile dieser einen intensiv cyanblauen Farbstoff absonderte. War die Reaction der Milch dagegen amphoter, so war der Farbstoff mehr grau bis mattblau; auf Zusatz von Säuren jedoch erschien sofort die cyanblaue Farbe wieder. Auf Fleischwasserpeptongelatine[1]) und Lösungen von weinsaurem Ammoniak, Harnstoff, Asparagin und Leucin war der abgeschiedene Farbstoff grün, der nach und nach mit zunehmender alkalischer Reaction des Nährbodens in Gelbbraun überging. Andere Nährböden wie Pepton, Glycerin und Zuckerlösungen, die Pepton als Stickstoffquelle enthielten, waren zur Hervorbringung des Pigmentes ganz ungeeignet.

Ich selbst züchtete den *Micrococcus prodigiosus* auf sehr verschiedenen Nährböden, wobei die diversesten Resultate erzielt wurden:

1) Auf allen Substraten, die reich an stickstoffhaltigen Nährstoffen waren, gleichgültig ob dabei Asparagin, Albumin, Pepton oder Fleischextract zur Verwendung kam, bildete sich stets reichlichst das rothe Pigment.

   Waren die betreffenden Lösungen anfangs auch nicht immer neutral oder alkalisch, sondern schwach sauer, so schied er stets so reichliches Alkali (NH_3?) ab, dass in diesen Fällen die Reaction nach 4—5 Tagen alkalisch wurde.

2) Sobald die stickstoffhaltigen Nährstoffe auf ein Minimum (0,05%) reduzirt wurden, unterblieb bei sonst sehr üppiger Entwickelung und Vermehrung die Pigmentbildung vollkommen.

Bei manchen chromogenen Spaltpilzarten scheint der freie Zutritt der Luft die Pigmentbildung zu fördern, vielleicht sogar unbedingt dazu nothwendig zu sein. Schroeter[2]) sah z. B. bei dem *Micrococcus prodigiosus*, dass der freie Zutritt von Luft allein die Pigmentbildung eintreten lasse, da bei Kulturen auf Weizenbrei die Rothfärbung nur an der Oberfläche eintrat, während im Innern der Masse der Pilz farblos blieb.

Wieder bei anderen Arten übt das Licht den grössten Einfluss auf die Pigmentabsonderung aus. So gelang es mir beispielsweise vom *Micrococcus ochroleucus*, der von mir im Menschenharn gefundenen chromogenen Spaltpilzform, ganz farblose Kulturen zu erzielen, sobald

---

Struck, Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. II. Band. 1884. pag. 355—364.

1) Ich fand, dass das auf Gelatine (3% trockenes Pepton, 0,5% Liebig's Fleischextract, 0,5% Traubenzucker) von demselben Bacillus erzeugte Pigment grün war.

2) Schroeter, Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente; Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Band, 2. Heft, pag. 111.

ich den Lichtzutritt abschnitt. Setzte ich diese farblosen Kulturen aber dem Einflusse des Lichtes aus, so trat nach Verlauf von 36 bis 48 Stunden eine lebhafte Gelbfärbung derselben ein.

Die Zahl der gelbe Pigmente absondernden chromogenen Spaltpilze ist bis jetzt schon ziemlich gross.

Wir kennen nämlich:

1) *Micrococcus luteus* Cohn

Synon. Bacteridium luteum (Schroeter).

Diesen Pilz fand Schroeter[1]) bei Kulturen auf Kartoffelstücken, auf welchen er sich in Form kleiner hellgelber Tröpfchen ansiedelte. Anfangs sind die Kolonien Mohnsamen gross, erreichen nach 3 Tagen die Grösse eines halben Pfefferkornes und vertrocknen dann schliesslich zu flach schildförmigen Körperchen, deren Mitte nabelförmig hervortritt. Die Zellen sind nach Schroeter elliptisch, etwas grösser als die von *Bacteridium prodigiosum* und zeigen keine Bewegung.

Cohn[2]) liess diesen Pilz in einer Lösung von essigsaurem und weinsaurem Ammoniak wachsen. Auf dieser Nährlösung bildete der *Micrococcus luteus* eine dicke gelbe Haut und am Boden des Reagenscylinders sammelte sich ein gelbes Sudiment an. Die Flüssigkeit selbst blieb während des Versuches farblos, da das abgeschiedene Pigment in Wasser unlöslich ist.

Wie eben erwähnt, ist der gelbe Farbstoff in Wasser unlöslich; Schwefelsäure und Alkalien verändern die gelbe Farbe nicht.

2) *Micrococcus aurantiacus* Cohn

Synon. Bacteridium aurantiacum (Schroeter).

Diese chromogene Spaltpilzform erhielt Schroeter[3]) auf Kartoffelstücken zwischen den lebhaft rosenrothen Tröpfchen des *Bacteridium prodigiosum*. Näher beschreibt Schroeter den Pilz in Kryptogamenflora von Schlesien, III. Bd. Heft 2. pag. 144, No. 125 und erwähnt, dass die Kolonien zu grossen Flecken anwuchsen, von Anfang bis zu Ende dieselbe Pomeranzenfarbe beibehielten und ganz aus unbewegten Körperchen bestanden.

Von Cohn[4]) wurde der Pilz auf einem gekochten Hühnerei und

[1]) Schroeter, Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente; Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Band, 2. Heft. pag. 119.
Kryptogamenflora von Schlesien. III. Bd. Heft 2, pag. 144 No. 126.

[2]) Cohn, Untersuchungen über Bacterien; Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Band, 2. Heft, pag. 153.

[3]) Schroeter, Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente; Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Band, 2. Heft, pag. 119.

[4]) Cohn, Untersuchungen über Bacterien; Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Band, 2. Heft, pag. 154—155.

in einer Lösung von essigsaurem und weinsaurem Ammoniak gezüchtet. Auf letzterer Nährlösung bildete der Pilz an der Oberfläche eine 2 bis 3 mm hohe goldgelbe Schicht; die Flüssigkeit selbst hatte eine schön orangegelbe Färbung angenommen und wimmelte von zahllosen unbeweglichen Kugelbacterien, die einzeln oder häufiger paarweise, doch auch zu 3, 4 und in grösserer Zahl zu geraden oder verbogenen Torulaketten in unregelmässigen Häufchen verbunden waren. Die Grösse einer einzelnen Zelle bestimmte Cohn zu 1,5 μ.

Das von dem Pilz abgeschiedene Pigment ist in Wasser löslich.

3) *Micrococcus chlorinus* Cohn.

Cohn[1]) fand diesen Spaltpilz auf Hühnereiweiss neben Kolonien von *Micrococcus aurantiacus*. Dieser Pilz besitzt die Fähigkeit ein gelbes oder saftgrünes Pigment abzuscheiden. In eine Lösung von weinsaurem Ammoniak übertragen, bildete der *M. chlorinus* nach 3 Tagen an der Oberfläche der betr. Lösung eine 1 cm hohe, gelblich saftgrüne Schicht; die Flüssigkeit färbte sich allmählich gelbgrün.

Die Zellen sind kuglig. Der Farbstoff ist in Wasser löslich; durch Säuren tritt eine Entfärbung desselben ein.

4) *Micrococcus pyogenes aureus* (Rosenbach).

Gelber Eiterpilz — Ursache der acuten infectiösen Osteomyelitis[2]) — ist bis jetzt nur in der Coccenform beobachtet worden.

Auf gekochten Kartoffeln, Fleischwasserpeptongelatine und Blutserum erzeugt der anfänglich weisse Pilz einen orangegelben Farbstoff.

---

[1]) Cohn, Untersuchungen über Bacterien; Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Band, 2. Heft, pag. 155.

Kryptogamenflora von Schlesien. III. Band, 2. Heft. pag. 144. No. 128

[2]) a. Becker, Mittheilung über den die acute infectiöse Osteomyelitis erzeugende Mikroorganismus; deutsche mediz. Wochenschrift, November 1883.

b. Krause, Ueber einen bei der acuten infectiösen Osteomyelitis des Menschen vorkommenden *Micrococcus*; Fortschritte der Medizin. II. Bd. 1884. pag. 221.

c. Schüller, Zur Kenntniss der *Micrococcen*, bei acuter infectiöser Osteomyelitis. *Micrococcen*heerde im Gelenkknorpel; Centralblatt für Chirurgie 1881. No. 12.

d. Rosenbach, Ueber die die acute Osteomyelitis beim Menschen erzeugenden Microorganismen; Centralblatt für Chirurgie 1884, No. 5.

e. Rosenbach, Beiträge zur Kenntniss der Osteomyelitis; deutsche Zeitschrift für Chirurgie X.

f. Ribbert, die Schicksale der Osteomyelitis Coccen im Organismus; deutsche medizinische Wochenschrift 1884, pag. 682.

Kryptogamenflora von Schlesien. III. Bd. 2. Heft. pag. 147, No. 137.

5) *Bacterium xanthinum* (Ehrenberg) oder *synxanthum* (Schroeter).

Synon. *Vibrio synxanthus* Ehrenberg.
Vibrio xanthogenus Fuchs.

Diese Spaltpilzform wurde als Ursache des Gelbwerdens [1]) gekochter Milch erkannt. Auch auf Kartoffeln, Mohrrüben etc. ist man im Stande den Pilz zu züchten; auf diesen festen Substanzen bildet er citronengelbe Zoogloeen.

Die vegetativen Zellen sind kurz cylindrisch, oblong 0,7—1 μ lang, lebhaft beweglich, isolirt oder in Ketten verbunden.

Wird das Pigment eingetrocknet, so erhält man eine gelbbraune Kruste, die in Alkohol und Aether unlöslich ist, dagegen sich vollkommen in Wasser löst.

Alkalien verändern die gelbe Farbe nicht; Säuren verursachen dagegen eine Entfärbung, die durch Zusatz von Alkalien wieder auf gehoben werden kann.

Vor dem Spektroskop zeigt die Lösung keinen charakteristischen Absorptionsstreifen, sondern nur eine Trübung der Strahlen diesseits und jenseits Gelb.

6) *Bacterium Hyacinthi* Wakker.

Wakker [2]) erkannte diesen Spaltpilz als Erzeuger der gelben Hyacinthenkrankheit. Es beschreibt Wakker diesen Pilz in dem unten citirten Referat als mit *Bacterium Termo* in Form und Grösse übereinstimmend. Die Zellen erscheinen, so lange sie in den von ihnen abgeschiedenen Schleimmassen eingebettet liegen, ruhig, nehmen aber sofort Bewegung an, sobald durch Salzsolution (0,75% Na Cl.) der Schleim verdünnt wird.

7) *Bacillus Hansenii* Rasmussen [3]).

Dieser Pilz wuchs auf Bierwürze, Fleischwasser, Urin etc., indem er an der Oberfläche der Nährlösung ein gelbes bis weissliches Häut-

[1]) a. Ehrenberg, Ueber den Pilz der gelben Milch; Bericht über die Verhandlungen der Berliner Akademie. 1840, No. 54. pag. 202.
b. Fuchs, Beiträge zur Kenntniss der gesunden und fehlerhaften Milch der Hausthiere; Magazin der gesammte Thierheilkunde. Band VII. 2. pag. 194.
c. Schroeter, Ueber einige durch Bacterien gebildete Pigmente; Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Band, 2. Heft, pag. 120 u. 126.

[2]) Referat von Wakker; botanisches Centralblatt Band XIV, pag. 315—316.

[3]) Rasmussen, Ueber die Kultur von Mikroorganismen vom Speichel gesunder Menschen. (Om Dryckning af microorganismen fra spyt af sunde mennesker). Dissertation pag. 80 und 81. Kopenhagen 1883.

chen bildete, das aus 2,8—6 μ langen und 0,6—0,8 μ breiten Stäbchen bestand. Nach 4 Tagen fanden sich 1,7 μ lange und 1,1 μ breite Sporen vor. Auf Kartoffelstücke übertragen bildete der Pilz nach 4 Tagen ein chromgelbes Häutchen, das auch hier aus Stäbchen bestand, die nach einiger Zeit Sporen bildeten. Die anfängliche chromgelbe Färbung wurde später orangegelb, gelbbraun und schliesslich schmutzigbraun.

Das Pigment ist unlöslich in Wasser, Alkalien, Säuren, Alkohol, Aether und Chloroform.

8) *Leptothrix variablis* (Rasmussen).

Syn. Chromogene *Leptothrix*form = *Leptothrix II* Rasmussen[1]).

Rasmussen züchtete diesen Pilz aus dem Speichel gesunder Menschen. Auf Kartoffel oder Nährgelatine übertragen bildet der Pilz graugelbe bis hellgelbe oder röthliche Kolonien. In Urin übertragen erscheinen am 2.—4. Tage gerade und schraubige Fäden.

Während die *Leptothrix*-artigen Fäden bewegungslos sind, zeigen die kürzeren und Schraubenformen einen hohen Grad von Beweglichkeit. Bei allen Fäden ist eine Gliederung in Stäbchen und coccenartige Glieder zu erkennen. In höherem Alter der Kulturen werden die Fäden bewegungslos und schliesslich tritt ein Zerfall derselben ein.

Aehnliche Mannigfaltigkeit in den Formen erhielt Rasmussen bei Kulturen des Pilzes in anderen Nährlösungen und auf Kartoffeln.

9) *Sarcina ventriculi* Goodsir.

Dieser Pilz wurde am häufigsten im Magen gesunder und kranker Menschen gefunden, kommt aber auch in anderen Organen vor. Ausserhalb des Organismus gedeiht der Pilz auf festen pflanzlichen und thierischen Substraten, wurde von Cohn[2]) aber auch in einer Lösung von 1% weinsaurem und 1% essigsaurem Ammoniak und von Pasteur im Hefenwasser mit Erfolg gezüchtet. In Nährlösungen bildet der Pilz an der Oberfläche ein gelbes Häutchen, auf festen Substraten dagegen tritt er in Form chromgelber trockner Häufchen auf.

Der Pilz hat die Fähigkeit in seinen Zellen einen schwach gelben Farbstoff abzuscheiden.

Schroeter führt in der Kryptogamenflora von Schlesien, III. Band

---

[1]) Rasmussen, Ueber die Kultur von Mikroorganismen vom Speichel gesunder Menschen (Om Dryckning af microorganismer fra spyt af sunde mennesker). Dissertation pag. 66—69. Kopenhagen 1883.

[2]) Cohn, Untersuchungen über Bacterien; Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Band, 2. Heft, pag. 139.

Kryptogamenflora von Schlesien. III. Band, 2. Heft. pag. 153. No. 164.

2. Heft noch folgende einen gelben Farbstoff abscheidende Pilze auf: *Micrococcus diffluens*[1]), *Micrococcus sordidus*[2]), *Micrococcus pyogenes citreus*[3]), *Micrococcus cereus flavus*[4]), *Sarcina lutea*[5]), *Bacterium termo*[6]), *Bacillus melleus*[7]).

Nachdem ich im Vorhergehenden in Kürze das Wichtigste über die bis jetzt bekannten, ein gelbes Pigment absondernden Spaltpilzformen mitgetheilt habe, will ich nunmehr näher auf die von mir im Menschenharn gefundene, unter gewissen Bedingungen einen schwefelgelben Farbstoff erzeugende Spaltpilzart eingehen.

Im Winter $18\frac{85}{86}$ beschäftigte ich mich im Laboratorium des Herrn Professor Dr. Harz mit der Untersuchung chromogener Spaltpilzformen. Herr Professor Dr. Harz hatte die Güte, mir einige Portionen Menschenharn, in denen sich verschiedene chromogene Spaltpilzformen vorfanden, zur Verfügung zu stellen.

Die in den erwähnten Harnportionen enthaltenen verschiedenen Spaltpilzformen suchte ich dadurch von einander zu trennen, dass ich verflüssigte Peptongelatine, die sich in Erlenmayer-Kolben befand, mit einer geringen Menge des fraglichen Harn's versetzte. Es fand sich nun bei diesen Versuchen der Trennung stets eine ein gelbes Pigment abscheidende Spaltpilzform ein, die schon in ihren ersten Stadien der Entwickelung, noch bevor eine Pigmentabscheidung eingetreten war, durch den eigenthümlichen Beginn des Wachsthums die Aufmerksamkeit auf sich lenkte.

Es bildeten sich nämlich 24 Stunden nach der Infektion auf dem Substrat kleine Inselchen von Kolonien, die wie ein zartes Häutchen die Oberfläche überzogen. Jede einzelne ca 2 mm. grosse anfangs fast farblose Kolonie war an der Peripherie von einem etwas erhabenen und wellig erscheinenden Saume begrenzt.

Im weiteren Wachsthumsverlaufe erhob sich der centrale Theil der Kolonien ein wenig, während vom Rande aus nach allen Seiten feine Ausläufer ausstrahlten, die sich vielfach wieder verzweigten. Während dieser Ausbreitung des Pilzes an der Oberfläche des Substrats färbten sich die Kolonien intensiv schwefelgelb.

Nur an den äussersten Grenzen, also da wo sich namentlich die

---

[1]) Kryptogamenflora von Schlesien. III. Band, 2. Heft. pag. 144. No. 127.
[2]) Ebendaselbst. pag. 145. No. 131. [3]) Ebendaselbst. pag. 147. No. 138.
[4]) Ebendaselbst. pag. 147. No. 140. [5]) Ebendaselbst. pag. 154. No. 167.
[6]) Ebendaselbst. pag. 155. No. 169. [7]) Ebendaselbst. pag. 158. No. 179.

noch im jugendlichen Zustande befindlichen Zellen vorfanden, trat keine Pigmentbildung auf[1]).

Diese Thatsache berechtigt wohl den Schluss zu ziehen, dass die Zellen erst ein gewisses Alter resp. ihre volle Grösse erreicht haben müssen, ehe sie befähigt sind, Farbstoff zu produziren, wie auch bei den jüngsten Kulturrasen stets erst nach einiger Zeit Farbstoffabscheidung bemerkt werden kann.

Während anfänglich die Nährgelatine vom Pilz fest gelassen wurde, trat in höherem Alter stets eine Verflüssigung derselben ein, wobei ein zähflüssiger, stark alkalisch reagirender, schwach gelb gefärbter Schleim abgeschieden wurde.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte es sich, dass Coccen die Erzeuger der Kolonien waren und zwar traten dieselben theils isolirt, theils in Kettenverbänden- sog. Torula- oder Streptococcusformen auf. An der Bildung der Ketten partizipirten 4 — 6 — 8 — 12 Coccen; häufig fand man auch nur 2 Coccen zu sog. Diplococcen vereinigt.

Sämmtliche, sowohl die isolirten, als auch die zu Diplococcen und Streptococcen verbundenen Formen zeigten lebhafte Bewegungserscheinungen. Während die längeren Ketten ausgesprochene Ortsveränderung wahrnehmen liessen, indem sie sich abwechselnd krümmend und wieder streckend weiter bewegten, konnte man bei den isolirten Coccen und den Diplococcen nur eine zitternde oder kreisende Bewegung ohne Ortsveränderung beobachten.

Was den eigenthümlichen Farbstoff dieses Pilzes anbelangt, so ergab sich, dass derselbe in Wasser völlig unlöslich, in Alkohol dagegen leicht löslich ist. Die alkoholische Lösung erschien gelb mit einem Stich ins Grün.

Vor dem Spektroskop liess die Lösung eine schwache Trübung der vor der Linie D und eine stärkere Verdunkelung der über die Linie F hinausliegenden Strahlen erkennen, ohne jedoch charakteristische Absorptionsstreifen zu zeigen.

Alkalien üben auf den Farbstoff keine Wirkung aus; Säuren verursachen eine sofortige Entfärbung, die durch Neutralisation und selbst Uebersättigung mit Alkali nicht wieder gehoben werden kann.

Offenbar war dieser Farbstoff mit den bis jetzt bekannten und näher untersuchten nicht identifizirbar.

Um zunächst den mit vielen anderen Spaltpilzarten verunreinigten

[1]) Ganz dieselbe Erscheinung beobachtete ich übrigens auch bei Kulturen von *Micrococcus prodigiosus*. Es war nämlich auch hier der äusserste Rand der Kolonie stets farblos.

Micrococcus ochroleucus zu isoliren, bediente ich mich des bekannten Verdünnungsverfahrens. In 10 cc = ca. 150 Tropfen destillirten und gut sterilisirten Wassers brachte ich mit Hülfe einer ausgeglühten Platinnadel eine kleine Menge des pilzartigen Materials und schüttelte es kräftig durch. Einen Tropfen dieser Flüssigkeit verdünnte ich wieder mit 10 cc. Wasser und ganz in derselben Weise wiederholte ich dies Verfahren noch einmal, so dass ich schliesslich eine 3,375000fache Verdünnung erzielte. Nach fünfmaliger Wiederholung dieses Verfahrens erhielt ich schliesslich absolute Reinkulturen.

Bei der Kultur des *Micrococcus ochroleucus* wurden folgende Punkte in erster Reihe berücksichtigt:

1. Die für den Pilz passendsten Nährstoffbedingungen;
2. Wuchsformen und Vermehrungsarten desselben;
3. Verhalten gegen verschiedene Temperaturen;
4. Einfluss des Lichtes.

Erstens: **Ernährungsbedingungen.**

Um festzustellen, welche Ernährungsbedingungen die günstigsten für das Gedeihen des Pilzes seien, wurde ihm die Nahrung sowohl aus verschiedenen Nährstoffen bereitet, als auch die letzteren in verschiedener Form dargereicht.

Ausserdem war auch die Reaction des Nährbodens variabel, um constatiren zu können, welche das Wachsthum am meisten begünstigt.

I. Kulturversuche mit festen Nährstoffen.

A. Mittleres Durchschnittsverhältniss zwischen Eiweissstoffen und Kohlehydraten.

1. Pepton-Gelatine, bestehend aus:

   3% trockenem Pepton,
   0,5% Liebig'schem Fleischextract,
   0,5% Traubenzucker.

   Zur Lösung dieser Stoffe nahm ich gut sterilisirtes Brunnenwasser, wodurch noch die nöthigen Aschenbestandtheile in die Nahrung gelangten.

   Auf 100 Theile dieser Lösung nahm ich 20 Theile Gelatine.

2. Stärkekleister mit Pepton.

   Weizenstärke wird zu diesem Zweck kalt mit einer Lösung von

   3% trockenem Pepton
   0,5% Liebig'schem Fleischextract

angerührt und auf dem Wasserbade erwärmt, bis die Masse zu einem nicht zu steifen Kleister gequollen war.

B. Eiweissstoffe überwiegen die Kohlehydrate bedeutend:

3. Hart gekochtes Hühnereiweiss.

C. Kohlehydrate vorherrschend.

4. Kartoffel.

5. Gelatine mit Traubenzucker bereitet aus:

5% chemisch reinem Traubenzucker
0,05% Liebig'schem Fleischextract.

Auf 100 Theile Lösung kamen 20 Theile Gelatine.

6. Stärkekleister.

II. Kulturversuche mit flüssigen Nährstoffen.

7. Lösung von 3% trockenem Pepton
0,5% Liebig'schem Fleischextract
0,5% Traubenzucker.

8. Milch.

9. Menschenharn.

10. Lösung von 5% Traubenzucker
0,05% Liebig'schem Fleischextract.

11. Salzlösung aus:

0,1035 gr K_2HPO_4
0,016 „ $MgSO_4$
0,013 „ K_2SO_4
0,0055 „ $CaCl_2$
1,000 „ weinsaures Ammoniak.

Die Salze wurden in 1 Lit. sterilisirten Wasser gelöst.

12. Salzlösung mit Harnstoff.

Die sub 11 genannte Lösung wurde mit 2,8% Harnstoff beschickt.

Sämmtliche Materialien und Nährlösungen wurden immer sorgfältigst sterilisirt und zwar je nach ihrer Natur entweder im Papin'schen Topfe, im strömenden Dampfe oder durch discontinuirliche Sterilisation keimfrei gemacht.

Die Impfung geschah bei allen Versuchen folgendermaassen:

„Mit einer ausgeglühten Platinnadel wurde dem vorher auf seine Reinheit geprüften Impfmaterial eine kleine Probe entnommen und in 5 cc. sterilisirten Wasser gut vertheilt. Aus dieser pilzhaltigen Flüssigkeit übertrug ich einen Tropfen auf oder in die zu inficirenden Nährmedien."

Die Untersuchungen über das Wachsthum des Pilzes geschahen

täglich und zwar derartig, dass jeden Tag einer neuen Reinkultur, die aber sämmtlich zu gleicher Zeit angesetzt waren, das Untersuchungsmaterial entnommen wurde.

Eine Probe wurde im gefärbten, eine andere dagegen im ungefärbten Zustande der mikroskopischen Untersuchung unterworfen.

Die Untersuchungen selbst führte ich mit Hülfe Hartnack'scher Systeme mit homogener Immersion aus.

Die Grössenbestimmungen der Coccen wurden im ungefärbten Zustande derselben vorgenommen, und bediente ich mich dazu eines Hartnack'schen Okularmikrometers.

Die ersten gefärbten Deckglaspräparate stellte ich nach den von Hueppe in seinem Werke Methoden der Bacterienforschung 3. Aufl. pag. 63—65 gegebenen Vorschriften her. Es waren aber die nach diesen Vorschriften angefertigten Präparate zur mikroskopischen Untersuchung nicht geeignet, da der vom *Micrococcus ochroleucus* in grosser Menge abgesonderte Schleim sowohl die Wuchsformen wie deren Verbände nicht scharf erkennen liess.

In der Folge wandte ich deshalb ein von Herrn Professor Dr. Harz gütigst mitgetheiltes Verfahren zur Herstellung von Deckglaspräparaten an.

Das Verfahren ist folgendes:

„Auf einem Deckglas wird eine kleine Probe der bacterienhaltigen Substanz in einem Tropfen sterilisirten Wassers innigst vertheilt, dann mit einer geringen Menge konzentrirter Salzsäure behandelt. Die Dauer der Einwirkung von Salzsäure schwankt je nach der vorhandenen Schleimmenge von 1—$2\frac{1}{2}$ Minuten.

Nach dieser Zeit neutralisirt man mit Ammoniak und lässt die ganze Masse im Trockenschrank bei + 50° C. langsam eintrocknen. Ehe man nun die Färbung ausführt, macht man durch dreimaliges Hindurchziehen des Deckglases durch eine Flamme die Schicht vollkommen lufttrocken.

Die Färbung selbst geschah bei gewöhnlicher Temperatur mit einer Lösung von Bismarckbraun in Alkohol und Glycerin.

Nach der Färbung wird das betreffende Präparat gut mit Wasser abgespült, wieder getrocknet und zum Zwecke der Aufbewahrung in Canadabalsam, der mit einer Spur Terpentinöl verdünnt ist, eingeschlossen."

Die nach dieser Methode hergestellten Präparate liessen Wuchsformen und Verbände ungemein scharf erkennen. Die Versuchsanordnung hatte ich so getroffen, dass Licht und Wärme in dieser Versuchsreihe stets dieselben blieben und nur die Nahrung resp. die Reaktion des

Nährbodens sich änderte. Sämmtliche Kulturen befanden sich nämlich in einem Vegetationsapparat, dessen Temperatur durch einen Thermostaten genau auf + 22,5 C. gehalten wurde. Durch eine vorn am Vegetationskasten befindliche, doppelwandige Glasthür war wohl dem Tageslicht der volle Zutritt gestattet, doch durch entsprechende Placirung des Apparates konnte direktes Sonnenlicht die Kulturen nicht treffen.

Die Dauer eines Versuches war in der Regel ein Monat und die Untersuchungen wurden, wie schon oben erwähnt, täglich ausgeführt.

1a) Pepton-Gelatine.

(Zusammensetzung derselben: Siehe oben.)

Beim Kochen dieser Gelatine setzte ich Natriumcarbonat bis zur schwach alkalischen Reaction zu.

Die ersten Spuren von seiner Anwesenheit verrieth der Pilz 24 Stunden nach der Impfung. Es entstanden nämlich nach dieser Zeit an der Oberfläche des Substrats um die Impfstellen farblose, feine Ueberzüge, die von den Kolonien des Pilzes gebildet wurden.

Bis zum 3. Tage hatten die Kolonien eine Ausbreitung von ca. 5 mm erreicht und eine intensiv schwefelgelbe Färbung angenommen. Während bis zum 12. Tage der Pilz sich nur an der Oberfläche des Substrats ausbreitete, nahm er von diesem Zeitpunkt an auch tiefer liegende Regionen zu seiner Ernährung in Anspruch. Es senkten sich dabei die Kolonien langsam in das Substrat und der entstehende Hohlraum füllte sich mit einem zähflüssigen, schwachgelb gefärbten und stark alkalisch reagirenden Schleime an.

Hatten die Kulturen ein Alter von ca. 10—14 Tagen erreicht, so trat ein eigenthümlich penetranter Geruch nach Schwefelverbindungen auf.

Unterm Mikroskop sah man, dass die Kolonien von Micrococcen, die theils isolirt, theils in Verbänden vorhanden waren, gebildet wurden. Als Verbandform war die Torulaform vorherrschend, während Diplococcen in der Minderzahl auftraten.

Sämmtliche Formen zeigten lebhafte Bewegungserscheinungen.

Grösse der Coccen: 0,5—0,8 μ.

1b) Pepton-Gelatine.

Zu diesem Versuch wurde die natürliche Säure der Gelatine nicht abgestumpft, sondern durch wenig Essigsäure noch etwas verstärkt.

Anfänglich ist wohl in Folge der schwach sauren Reaction das Wachsthum des Pilzes langsam; doch bald wird das Hinderniss überwunden, da die aus der Zersetzung der Eiweissstoffe durch den Pilz resultirenden Produkte starke alkalische Reaction zeigen, wodurch eine Neutralisa-

tion, ja sogar schliesslich eine Uebersättigung des schwach sauer reagirenden Nährbodens stattfindet.

Auch in diesem Versuch waren Coccen die Erzeuger der Kolonien und fanden sich jene zum Theil isolirt, zum Theil zu Diplococcen und Streptococcen verbunden vor.

Beweglichkeit und Grösse der Coccen waren dieselben wie im vorhergehenden Versuch.

2) Stärkekleister mit Pepton.

Bereitung des Kleisters s. Seite 418.

Der nicht zu steife, schwach alkalisch reagirende Kleister wurde in sterilisirte Erlenmayer-Kolben gefüllt und zwar so viel, dass eine 5 mm. hohe Schicht den Boden bedeckte. Nach dem Einfüllen machte ich die Masse durch einstündiges Kochen im strömenden Dampfe keimfrei.

Dieser Nährboden behagt dem Pilz offenbar ungemein, da schon 1 Tag nach der Impfung 3—5 mm grosse, wenig gefärbte Kolonien die Impfstellen umgaben.

Die grösste Wachsthumsenergie fand am 4.—7. Tage statt, mit ihr war gleichzeitig eine bedeutende Schleimabsonderung und Farbstoffproduktion verbunden. Der abgeschiedene Farbstoff besass eine intensiv schwefelgelbe Färbung. Vom 7.—14. Tage war die weitere Ausbreitung nur noch gering und hörte nach dieser Zeit gänzlich auf.

Die Ausbreitung des Pilzes geschah auf diesem Substrat nur an der Oberfläche, in das Innere einzudringen besass der Pilz nicht die Fähigkeit.

Ein penetranter Geruch nach Schwefelverbindungen machte sich auch hier bemerkbar.

Die anfänglich schleimigen Kolonien trockneten allmählich aus und stellten schliesslich eine bröckliche Masse dar, wobei gleichzeitig die intensiv schwefelgelbe Färbung der Kolonien verschwand und einer schmutziggelben Platz machte.

Bei der mikroskopischen Untersuchung fanden sich auch hier isolirte Coccen, Diplococcen und Streptococcen vor, doch wechselte im Verlaufe des Versuches das Auftreten der einzelnen Formen bedeutend.

Im jugendlichen Alter der Kolonien (bis zum 4. Tage) traf man neben isolirten Coccen meist noch Diplococcen an, während die Kettenverbände nur in sehr geringer Anzahl sich vorfanden.

In der Zeit vom 4.—7. Tage, also der Periode des lebhaftesten Wachsthums und der bedeutendsten Schleimabsonderung, konnte man bei der mikroskopischen Untersuchung nur Coccen in Kettenverbänden finden, während man gegen Ende des Versuchs, namentlich als die

Kolonien anfingen auszutrocknen, wieder isolirte Coccen und auch Diplococcen antraf. Häufig hatten sich im letzteren Falle die Coccen und Diplococcen zu unregelmässig gestalten Haufen vereinigt.

Die ursprünglich lebhafte Beweglichkeit der Formen hatte gegen Ende des Versuchs ganz bedeutend abgenommen, ja schliesslich war gar keine Bewegung mehr zu beobachten.

Grösse der Coccen 0,5—0,8 μ.

3a) Hartgekochtes Hühnereiweiss.

Durch verdünntes Ammoniak wurde der Nährboden schwach alkalisch gemacht.

24 Stunden nach der Impfung hatten sich an der Oberfläche des Substrats 2 3 mm grosse, fast farblose Kolonien angesiedelt, die nun rasch sich ausbreitend am 4. Tage eine Fläche von $1\frac{1}{2}$ cm bedeckten.

Gleichzeitig mit dieser rapiden Ausbreitung trat eine bedeutende Schleimabsonderung und eine intensive Gelbfärbung der Kolonien auf.

Das ursprünglich feste Substrat wurde vom Pilz während seines Wachsthums energisch angegriffen und schliesslich zu einer von gelbem Schleim bedeckten schmierigen Masse aufgelöst.

Die anfänglich nur schwache alkalische Reaction gewann im Verlaufe des Versuches ganz bedeutend an Stärke, wie auch der Geruch nach Schwefelverbindungen ungemein stark hervortrat.

Auch bei diesem Versuch war das Auftreten der Coccenverbände ein wechselndes; während nämlich anfänglich nur isolirte Coccen und Diplococcen erschienen, bildeten sich zur Zeit der grössten Schleimabsonderung meistens Kettenverbände. Gegen Ende des Versuches jedoch nahmen Letztere an Zahl wieder ab und dafür traten wiederum isolirte Coccen und Diplococcen auf.

Während die Beweglichkeit aller Formen im jugendlichen Alter der Kulturen eine sehr lebhafte war, hatte sie später an Stärke bedeutend eingebüsst.

Grösse der Coccen: 0,5—0,8 μ.

3b) Hartgekochtes Hühnereiweiss.

Die Reaction des Nährbodens wurde neutral gehalten.

Die neutrale Reaction des Nährbodens übte auf die Entwickelung und das Wachsthum des Pilzes keinen verändernden Einfluss aus; dagegen wurde der Beginn der Auflösung des Substrats um einige Tage verzögert. Während bei alkalischer Reaction des Nährbodens schon bei 6 Tage alten Kulturen die Auflösung begann, trat selbige im vorliegenden Versuche erst bei 9 Tage alten Kulturen ein. Die Reaction der schleimigen Masse war stark alkalisch.

Als Wuchsformen waren Coccen nachweisbar, die entweder isolirt oder zu Diplococcen und Ketten vereinigt sich vorfanden.

Die Beweglichkeit dieser Formen war am 5. bis 8. Tage der Zeit der lebhaftesten Vermehrung am grössten; gegen Ende des Versuches wurde sie bedeutend schwächer.

Grösse der Coccen: 0,5—0,8 μ.

3c) Hartgekochtes Hühnereiweiss.

Mit verdünnter Essigsäure wurde das Substrat schwach angesäuert.

In Folge der sauren Reaction des Nährbodens trat eine sehr merkliche Verzögerung sowohl in der Entwickelung als auch im ferneren Wachsthume des Pilzes ein.

Die ersten sehr vereinzelt auftretenden Kolonien zeigten sich 48 Stunden nach der Impfung. Bis zum 4. Tage hatten sie sich mehr zu einem Rasen ausgebreitet, dessen Rand erhaben und wellig erschien. Die zu jener Zeit ungemein viel Schleim absondernden Kolonien hatten gleichzeitig eine intensiv schwefelgelbe Färbung erhalten.

Die Reaction einer Kolonie war sehr schwach alkalisch.

Am 10. Tage begann die Verflüssigung des Substrats und indem von jetzt an die Reaction stark alkalisch wurde, war der weitere Verlauf ganz derselbe wie bei den vorhergehenden Kulturen.

Als Wuchsformen erschienen auch hier bewegliche Coccen, die entweder isolirt oder zu Diplococcen und Ketten verbunden waren.

Grösse der Coccen: 0,5—0,8 μ.

4a) Kartoffel.

Durch verdünntes Ammoniak wurde der Nährboden schwach alkalisch gemacht.

Es zeigte sich sofort bei diesem Versuch, dass Kartoffeln, obgleich sie alkalisch gemacht waren, keinen günstigen Nährboden für den Pilz darstellen, denn erst 60—72 Stunden nach der Impfung machen sich die ersten Spuren von seiner Anwesenheit bemerkbar.

Um diese Zeit färben sich nämlich die Impfstellen dunkler mit einem Stich ins Violett, aber erst am 4. Tage wurden einzelne gelbe Kolonien von der Grösse eines Mohnsamens sichtbar.

Bis zum 7. Tage hatten sich die zuerst vereinzelt aufgetretenen Kolonien mehr vereinigt und bedeckten eine Fläche von 1—$1\frac{1}{2}$ cm. In der Folge nahm die Ausbreitung nicht mehr wesentlich zu, dafür verdickten sich die einzelnen Kulturrasen ganz bedeutend. Auffallend war bei diesen Versuchen die geringe Schleimabsonderung, in Folge dessen die Kolonien ein ziemlich trockenes Aussehen erhielten.

Der während des lebhaften Wachsthums abgeschiedene Farbstoff

hat eine schwefelgelbe Färbung, nimmt jedoch später, wenn die Kolonien trockener werden, einen grünlich-gelben Ton an.

Coccen waren auch hier die Erzeuger der Kolonien und zwar fanden sich meist isolirte Coccen und Diplococcen, seltener Kettenverbände vor. Die auftretenden Ketten waren stets kürzer (höchstens 4—6 Coccen vereinigten sich zu einer Kette) als die bei Kulturen auf eiweissreicher Nahrung auftretenden. Letzteren Umstand schreibe ich der bei Kulturen auf Kartoffeln nur in geringem Grade stattfindenden Schleimproduktion zu.

Ausser den oben erwähnten Formen traf man in alten schon ziemlich eingetrockneten Kulturen noch unregelmässig gestaltete Haufen von Coccen an.

Die anfänglich ziemlich lebhafte Beweglichkeit sämmtlicher Formen nahm rasch ab und gegen Ende der Versuche war sie ganz verschwunden.

Grösse der Coccen: 0,5—0,8 μ.

4b) Kartoffel.

Die Reaction des Nährbodens blieb neutral.

Im Verlaufe dieser Versuche trat es noch deutlicher hervor, dass der *Micrococcus ochroleucus* Kartoffeln als Nährboden nicht liebt, denn er entwickelte sich hier langsamer als im vorhergehenden Versuch. Die ersten Kolonien fanden sich 5—6 Tage nach der Impfung ein. Dieselben nahmen dann bis zum 9.—10. Tage etwas an Grösse zu, zeigten von da ab aber kein weiteres Wachsthum mehr.

Die Schleimabsonderung war auch hier nur sehr spärlich, so dass bereits am 16. Tage die Kulturen anfingen, zu einer bröcklichen Masse einzutrocknen, wobei wieder die schwefelgelbe Färbung der Kolonien verschwand und einer grünlich-gelben Platz machte.

Die auftretende Reaction ist schwach alkalisch.

Bei der mikroskopischen Untersuchung ergab sich, dass hier bewegliche Coccen und Diplococcen vorherrschten, wogegen Streptococcen nur in beschränkter Anzahl sich vorfanden.

In alten Kulturen traten Haufen, die von Coccen gebildet wurden, in grösserer Anzahl auf, dabei hatte die Beweglichkeit sämmtlicher Formen sich auf ein Minimum reducirt.

Grösse der Coccen: 0,5—0,8 μ.

4c) Kartoffel.

Durch verdünnte Essigsäure erhielt der Nährboden schwachsaure Reaction.

Die Folge dieser sauren Reaction des Nährbodens war, dass der Pilz nicht zur Entwickelung gelangen konnte.

Eine saure Reaction des Nährbodens ist demnach in erhöhtem Grade dann der Entwickelung des *Micrococcus ochroleucus* schädlich, wenn gleichzeitig die Zusammensetzung jenes für die Ernährung des Pilzes ungünstig ist.

5) Gelatine mit 5% Traubenzucker und 0,05% Liebig'schem Fleischextrakt.

Beim Kochen der Gelatine setzte ich Natriumcarbonat bis zur schwach alkalischen Reaction zu.

Trotzdem in vorstehender Nährkomposition die Einweissstoffe auf ein Minimum reducirt waren, so war das Wachsthum des Pilzes immerhin noch energisch zu nennen.

24 Stunden nach der Impfung siedelte sich an der Oberfläche um die Impfstellen ein von den Kolonien des Pilzes gebildeter fast farbloser Kulturrasen an, dessen Rand erhaben war und wellig erschien.

Am 6. Tage nahmen die inzwischen schwach gelbgefärbten Kolonien einen Raum von 8 mm ein.

Auffallend war auch hier einerseits die sehr geringe Schleimabsonderung, andererseits die spärliche Farbstoffproduktion. Es deutet diese Erscheinung darauf hin, dass beide Momente — Schleimabsonderung sowohl als auch Farbstoffproduktion[1]) — von der Zusammensetzung der Nahrung beherrscht werden.

Uebrigens konnte ich auch bei diesen Versuchen nicht den penetranten Geruch nach Schwefelverbindungen, wie solcher sich namentlich bei den Kulturen auf Hühnereiweiss stark bemerkbar machte, wahrnehmen.

Die Kolonien bestanden aus beweglichen isolirten Coccen, Diplococcen und einigen kürzeren Ketten. Längere Ketten waren zu keiner Zeit zu beobachten, da in Folge der geringen Schleimabsonderung die Coccen nicht im Zusammenhange bleiben konnten.

Grösse der Coccen: 0,5—0,8 μ.

6) Stärkekleister.

Bei dieser höchst kümmerlichen Ernährung wurde der Pilz nicht allein in seiner Wachsthumsenergie ungünstig beeinflusst, sondern auch die Grösse der einzelnen vegetativen Zellen hatte bedeutend abgenommen.

---

[1]) In später noch zu beschreibenden Versuchen werde ich klarlegen, welchen bedeutenden Einfluss das Licht auf die Farbstoffproduktion des Pilzes ausübt.

Die ersten nur sehr schwach gelbgefärbten Kolonien zeigten sich 3 Tage nach der Impfung auf der Oberfläche des Substrats. Bis zum 10. Tage breiteten sie sich noch weiter aus, von da an aber hörte jedes fernere Wachsthum auf. Ein Verdicken der Kolonien fand nicht statt, sondern es durchzog der Pilz als hellgelb gefärbte dünne Striche das Substrat.

In Folge des sehr geringen Eiweissgehaltes der Nahrung war die Schleimabsonderung nur sehr schwach und erschienen die Kolonien ziemlich trocken.

Als Wuchsformen liessen sich Coccen, die eine schwach zitternde Bewegung zeigten, wahrnehmen. Es waren dieselben theils isolirt, theils zu Diplococcen verbunden.

Kettenverbände waren dagegen zu keiner Zeit nachweisbar, was auch hier die Folge einer geringen Schleimabsonderung war.

Grösse der Coccen: 0,3 μ.

7) Lösung von 3% trockenem Pepton,
0,5% Liebig'schem Fleischextract,
0,5% Traubenzucker.

Die Reaction dieser Nährlösung wurde neutral gehalten.

Von der Lösung wurden 10 cc. in gut sterilisirte Fläschchen, deren Inhalt 20 cc. betrug, gefüllt und nachher im strömenden Dampfe keimfrei gemacht.

In der völlig klaren Nährlösung entstand 60 Stunden nach der Impfung eine schwache wolkige Trübung, die bis zum 10. Tage noch stärker wurde. Ungefähr am 8. Tage machte sich am Rande des Glases eine schwach gelbgefärbte Schleimschicht bemerkbar, welche bis zum 21. Tage die ganze Oberfläche der Lösung bedeckte. Ein Sediment auf dem Grunde des Gefässes konnte ich nicht bemerken.

Die Reaction der Lösung wurde im Verlaufe des Versuches stark alkalisch.

Die oben erwähnte Schleimschicht wurde von beweglichen Coccen, Diplococcen und kürzeren Ketten gebildet; auch in der stets trüb bleibenden Lösung fanden sich diese Formen vor.

Grösse der Coccen: 0,5 μ.

8) Milch.

Das Wachsthum des Pilzes äusserte sich am 2. Tage nach der Impfung dadurch, dass sich am Rande des Glases in der Milch eine schwache Blaufärbung zeigte, die aber bereits am 3.–4. Tage wieder verschwand und dafür eine gelbe Färbung auftreten liess.

In den folgenden 6 Tagen breitete sich diese gelbe Färbung über die ganze Oberfläche aus, war aber namentlich intensiv an den Stellen, an denen sich Rahm angesammelt hatte[1]).

Bis zum 20. Tage blieb dieser Zustand erhalten, von da ab jedoch wurde das Casein der Milch vom Pilz aufgezehrt und das Milchserum nahm eine bernsteingelbe Färbung an. Während dieses Vorganges wurde die Reaction der Milch stark alkalisch.

Die vom Pilz an der Oberfläche der Milch erzeugte schwach gelbgefärbte Schleimschichte blieb auch fernerhin erhalten.

Als Wuchsformen waren Coccen vertreten, die zu vieren vereinigt kurze Ketten bildeten. Die Gliederung dieser Ketten in Coccen war nur mit Hülfe sehr starker Vergrösserungen zu erkennen; bei schwächerer Vergrösserung erhielten die Formen das Aussehen von Bacterien.

Neben den Ketten fanden sich vereinzelt isolirte Coccen und Diplococcen vor.

Grösse der Coccen: 0,4 μ.

9) Menschenharn.

48 Stunden nach der Impfung bemerkte man eine schwache Trübung in dem bis dahin völlig klar gebliebenen Harn, die bis zum 6. Tage noch stärker wurde.

Gegen Ende des Versuches hatte sich am Boden des Gefässes ein schwach gelb gefärbtes Sediment abgelagert.

Die Reaction des getrübten Harns war stark alkalisch.

Wurde ein Tropfen des stark getrübten Harns auf Hühnereiweiss übertragen, so hatten sich nach 3 Tagen intensiv schwefelgelb gefärbte Kolonien eingefunden, die von beweglichen Coccen, Diplococcen und Streptococcen erzeugt wurden.

Die Bestandtheile des Sediments aus dem Harn waren bewegliche isolirte Coccen und Diplococcen; Streptococcen traf man dagegen seltener an.

Grösse der Coccen: 0,3—0,5 μ.

10) Lösung von 5% Traubenzucker
0,05% Liebig'schem Fleischextrakt.

Die Reaction der Lösung war neutral.

Am 4. Tage nach der Impfung machte sich das Wachsthum des Pilzes durch eine in der Lösung auftretende wolkige Trübung bemerk-

[1]) Auch bei Kulturversuchen des *Micrococcus prodigiosus* auf Milch tritt die intensivste Färbung stets in der Rahmschicht auf.

bar. Bis zum 7. Tage wurde die Trübung noch stärker, dann sistirte jedoch jedes fernere Wachsthum, weil in Folge zunehmenden Säuregehaltes die Lösung für die fernere Ernährung des Pilzes untauglich wurde.

Es besitzt also der *Micrococcus ochroleucus* die Fähigkeit, je nach der Ernährung verschiedene Zersetzungen zu erzeugen, und zwar ruft er in und auf Substraten, die reich an Eiweissstoffen sind, eine Zersetzung hervor, deren Endprodukte alkalische Reaction nachweisen lassen, während von demselben Pilz in Lösungen von Traubenzucker und gewissen Salzlösungen Zersetzungen mit saurer Endreaction veranlasst werden.

In Folge der starken Reduction der Eiweissstoffe trat bei diesem Versuche keine Farbstoffproduktion auf, auch blieb die Lösung so dünnflüssig, dass eine merkliche Schleimabsonderung nicht stattgefunden haben konnte. Die ganze Thätigkeit des Pilzes beschränkte sich in diesem Falle nur auf die Erzeugung einer Trübung in der Lösung.

Von auftretenden Formen bemerkte man bewegliche Coccen und Diplococcen; sehr vereinzelt fanden sich auch kurze Ketten vor.

Grösse der Coccen: 0,4 μ.

Impfte man hartgekochtes Hühnereiweiss mit einer Spur der getrübten Nährlösung, so entstanden nach 2—3 Tagen schwefelgelb gefärbte Kolonien, die aus isolirten Coccen, Diplococcen und längeren Kettenverbänden bestanden.

Die Grösse dieser Coccen war 0,5—0,8 μ.

11) Salzlösung aus 0,1035 gr. $K_2 HPO_4$
0,016 = Mg. SO_4
0,013 = $K_2 SO_4$
0,0055 = $Ca Cl_2$
1,0000 = weinsaures Ammoniak.

Eine am 2. Tage nach der Impfung in der Salzlösung entstehende Trübung verrieth die Anwesenheit des Pilzes. Bis zum 4. Tage wurd ediese Trübung etwas stärker, dann blieb bis zum 28. Tage der Zustand sich gleich. Nach diesem Zeitpunkt trat eine Klärung der Flüssigkeit ein und am Boden der Kulturgefässe bildete sich ein schwach gelbgefärbtes Sediment.

Die Reaction der Nährlösung wurde im Verlaufe des Versuches deutlich sauer.

Das Sediment bestand aus sich schwach bewegenden Coccen, Diplococcen und einigen kurzen Ketten.

Grösse der Coccen: 0,3 μ.

12) Salzlösung mit Harnstoff.

Der unter 11 genannten Salzlösung wurden noch 2,8% Harnstoff zugefügt.

Bis zum 6. Tage nach der Impfung blieb die Nährlösung völlig klar, dann trat eine schwache Trübung auf, die bis zum 9. Tage noch intensiver wurde.

Gleichzeitig mit dem Auftreten der Trübung ging die anfänglich neutrale Reaction der Lösung in eine stark alkalische über.

Nach 4 Wochen klärte sich die Lösung und am Grunde sammelte sich ein schwach gelb gefärbtes Sediment an. Die Bestandtheile des Sediments waren isolirte Coccen, Diplococcen und kurze Ketten, die sämmtlich Bewegungserscheinungen erkennen liessen.

Grösse der Coccen: 0,3 μ.

Die Resultate dieser ersten Versuchsreihe lassen folgende Schlussfolgerungen berechtigt erscheinen:

1) Der günstigste Nährboden für den *Micrococcus ochroleucus* ist derjenige, welcher Eiweissstoffe in genügender Menge enthält und dessen Reaction gleichzeitig entweder schwach alkalisch oder neutral ist. Saure Reaction des Nährbodens ist unter allen Umständen der Entwickelung des Pilzes nicht zusagend.
   Feste Nährböden sind dem Pilz im Allgemeinen zuträglicher als flüssige und erreicht derselbe in diesen Medien niemals die Grösse, wie in und auf festen Nährböden.
2) Bei einseitiger Ernährung mit Kohlehydraten werden Schleim- und Farbstoffabsonderung gemindert, selbst sistirt.
3) Unter allen obigen Verhältnissen bleibt die Coccenform erhalten. Schwankend war nur die Grösse der einzelnen vegetativen Kugelzellen.
4) Die Koloniebildung ist in hohem Grade abhängig von der Ernährung. In allen Fällen, bei denen die Schleimabsonderung bedeutend ist, also namentlich bei reichlicher Ernährung mit Eiweiss, entstehen längere Kettenverbände von 8—12 Coccen; dagegen treten überall dort, wo die Schleimabsonderung nur in geringem Maasse oder gar nicht stattfindet, — wie es bei einseitiger Ernährung mit Kohlehydraten und in gewissen Salzlösungen der Fall ist — die Coccen entweder isolirt oder nur zu zweien, höchstens vieren mit einander verbunden auf.

   Sonach tritt der *Micrococcus ochroleucus,* je nach der Ernährung:
   a) als isolirter *Micrococcus,* Coccus oder Kugelbacterie,
   b) als *Streptococcus*, sogenannte Rosenkranz- oder Torulaform auf. Würde man hier, wie bereits anderwärts offenbar irrthümlich geschehen, nur schlechthin nach der Form unterscheiden und klassifiziren [1]), so müsste man in dem vorliegenden Falle einen

und denselben Spaltpilz in und auf verschiedenen Nährlösungen kultivirt einmal als

Micrococcus ochroleucus,

das andere Mal dagegen als

Streptococcus ochroleucus

bezeichnen.

5) Je nach der Ernährung sind die vom *Micrococcus ochroleucus* erzeugten Zersetzungen sehr verschiedener Natur. In allen jenen Substraten, die reich an Eiweissstoffen sind, ruft der Pilz eine Zersetzung hervor, deren Endprodukte stark alkalisch reagiren, während derselbe in Lösungen von Kohlehydraten und gewissen Salzlösungen Zersetzungen mit saurer Endreaction veranlasst.

6) Zur Farbstoffproduction bedarf der *Micrococcus ochroleucus* reichlichst Stickstoff; doch ist es völlig gleich, ob derselbe in Form hochkomplizirter Verbindungen z. B. als Albumin oder in Form einfacherer z. B. als Ammoniaksalz dargereicht wird.

Von einigem Interesse dürfte es erscheinen, hier noch insbesondere hervorzuheben, dass feste und dünnflüssige Substrate als solche auf die Form und das isolirte oder zu Ketten verbundene Auftreten keinerlei Einfluss ausüben, nur die Grösse variirt in beiden beträchtlich, wie bereits oben hervorgehoben wurde.

Zweitens: **Einfluss verschiedener Temperaturen.**

Um das Verhalten des *Micrococcus ochroleucus* verschiedenen Temperaturen gegenüber kennen zu lernen, stellte ich folgende Versuchsreihen an:

1. Versuchs-Reihe: Einfluss einer konstanten Temperatur von + 6—8° C.
2. " " " " " " " + 22,5° C.
3. " " " " " " " + 36° C.
4. " " " höherer Temperaturen und zwar + 60—100° C.

Als Nährmedien wählte ich für die 1.—3. Versuchs-Reihe:

a) Hartgekochtes Hühnereiweiss,
b) Pepton-Gelatine resp. Agar-Agar mit Pepton,
c) Kartoffeln,
d) Stärkekleister,
e) Lösung von 5% Traubenzucker
0,05% Liebig'schem Fleischextrakt.

Bei der 4. Versuchsreihe dagegen nahm ich Kulturen auf Hühnereiweiss, die bei gewöhnlicher Zimmer-Temperatur erst soweit zur Entwickelung gebracht wurden, bis man makroskopisch die ersten Anfänge der Kolonien wahrnehmen konnte.

---

[1]) Hueppe verwendet die Formverbände zur Aufstellung von Untergattungen; vergl. Hueppe, Formen der Bacterien. 1886. pag. 141 und 144.

1. Einfluss constanter Temperatur + 6—8° C.

Die Versuche führte ich in einem durch Eis gekühlten Schrank aus. Da aber die Einrichtung derartiger Schränke das Licht nur sehr spärlich in das Innere eindringen lässt, so trat leider bei sämmtlichen Kulturen eine ziemlich geringe Farbstoffabscheidung ein.

a) Kulturen auf Hühnereiweiss.

Durch verdünntes Ammoniak wurde das Substrat schwach alkalisch gemacht.

Der Einfluss der niederen Temperatur machte sich dadurch geltend, dass der Pilz erst 4—5 Tage nach der Impfung merklich zur Entwickelung gelangte. Auch im weiteren Verlaufe des Versuches war das Wachsthum gerade kein üppiges zu nennen, denn am 12. Tage hatten die Kolonien erst die Grösse von 5 mm erreicht.

Die Auflösung des Substrats begann erst am 21. Tage und schritt nur äusserst langsam vorwärts. Während die Auflösung erfolgte, trat eine stark alkalische Reaction auf.

Die Kolonien wurden gebildet von beweglichen isolirten Coccen, Diplococcen und Streptococcen.

Eine weitere Folge der niederen Temperatur war die Grössenabnahme der einzelnen vegetativen Zellen.

Es betrug die Grösse der Coccen: 0,4 μ.

b) Kulturen auf Pepton-Gelatine.

4 Tage nach der Impfung begann an der Oberfläche des Substrats sich das Wachsthum des Pilzes dadurch zu äussern, dass um die Impfstellen vereinzelte Kolonien auftraten. Bis zum 10. Tage bedeckten die Rasen eine Fläche von 4—5 mm, von da an aber war beinahe keine Ausbreitung mehr wahrnehmbar.

Eine Verflüssigung des Substrats trat erst am 18. Tage ein, erreichte aber selbst bis zum 30. keine bedeutende Ausdehnung.

Bewegliche isolirte Coccen, Diplococcen und kürzere Ketten waren die hier auftretenden Formen und Verbände.

Grösse der Coccen: 0,4 μ.

c) Kulturen auf Kartoffel.

Durch Zusatz verdünnten Ammoniaks erhielt der Nährboden schwach alkalische Reaction.

6 Tage nach der Impfung fanden sich die ersten beinahe farblosen Kolonien auf dem Substrat ein.

Auf diesem Nährmedium ist das Wachsthum nur äusserst schwach, denn nach 30 Tagen bedeckten die Kolonien eine Fläche von nur 6 mm.

Die Schleimabsonderung war in diesem Versuch äusserst spärlich, in Folge dessen bei der mikroskopischen Untersuchung nur bewegliche isolirte Coccen und Diplococcen, dagegen gar keine Ketten anzutreffen waren. Bei alten Kulturen waren gleichfalls einige unregelmässig gestaltete Conglomerate von Coccen und Diplococcen wahrnehmbar.

Grösse der Coccen: 0,3—0,4 μ.

d) Kulturen auf Stärkekleister.

Auf diesem Substrat waren die Entwickelung und das Wachsthum des Pilzes in hohem Grade verzögert.

Am 8. Tage nach der Impfung traten die ersten Kolonien als schwach gelbgefärbte Pünktchen auf. Bis zum Schluss der Versuche erreichten dieselben eine Grösse von 4 mm und in Folge der geringen Schleimabsonderung hatten sie ein ziemlich trockenes Aussehen.

Als Wuchsformen erschienen Coccen, die zum Theil isolirt, zum Theil zu Diplococcen verbunden waren. Die Beweglichkeit dieser Formen war nur sehr schwach.

Grösse der Coccen: 0,1—0,3 μ.

e) Kulturen in einer Lösung von 5% Traubenzucker
0,05% Liebig'schem Fleischextract.

In der anfänglich ganz klaren Nährlösung entstand am 6. Tage nach der Infection eine schwach wolkige Trübung, die bis zum 16. Tage noch stärker wurde.

Während dieses Vorganges ging die anfänglich neutrale Reaction der Lösung in eine schwachsaure über.

Bei diesem Versuche trat in Folge des Mangels an stickstoffhaltigen Bestandtheilen, wie anderwärts von mir bei analogen Versuchen schon beobachtet und erwähnt, keine wesentliche, bemerkbare Pigmentbildung auf. Auch zeigte sich schliesslich die wässerige Nährlösung so dünnflüssig, dass offenbar kein oder nur sehr wenig Schleim abgesondert worden war.

In der getrübten Lösung fanden sich bewegliche isolirte Coccen Diplococcen und einige kurze Ketten.

Grösse der Coccen: 0,3 μ.

Das Ergebniss dieser eben geschilderten Versuchsreihe ist folgendes:

1. durch die niedere Temperatur wird das Wachsthum des *Micrococcus ochroleucus* ganz bedeutend verlangsamt.
2. Bei der niederen Temperatur erreichen die vegetativen Kugelzellen

nicht ihre volle Grösse, sondern bleiben oft über die Hälfte gegen die bei höherer Temperatur erhaltenen zurück.

Diese ungünstigen Einflüsse machen sich in verstärktem Maasse namentlich dann geltend, wenn gleichzeitig bei Mangel an Stickstoff die Ernährung eine dem Pilze nicht besonders zusagende ist; z. B. auf Kartoffeln, Stärkekleister.

2. Einfluss constanter Temperatur von + 22,5° C.

Ueber diese Versuche wurde bereits oben S. 421, 423, 424, 426, 428 berichtet. Ich bemerke hier kurz, dass diese Temperatur wohl als eine dem Optimum nahestehende zu betrachten ist, und dass der Pilz sich dabei überaus günstig entwickelt.

3. Einfluss constanter Temperatur von + 36° C.

Die Versuche wurden in einem Vegetationskasten ausgeführt, dessen Temperatur ein Soxhlet'scher Thermostat genau auf + 36° C. erhielt.

Der Vegetationsapparat besass vorn eine doppelwandige Glasthür, durch die Tageslicht in das Innere eindringen konnte. Ich umging also hier den Einfluss, den der Lichtabschluss hervorbringt, vollständig.

Als Nährböden benützte ich die schon oben erwähnten, nämlich:

a) Hartgekochtes Hühnereiweiss,
b) Agar-Agar mit 3% trockenem Pepton
0,5% Liebig'schem Fleischextrakt
0,5% Traubenzucker,
c) Kartoffel,
d) Stärkekleister
e) Lösung von 5% Traubenzucker
0,05% Liebig'schem Fleischextrakt.

Es zeigte sich bei diesem Versuch, dass der *Micrococcus ochroleucus* auf allen festen Nährböden bei gedachter Temperatur nicht zur Entwickelung gelangte.

In der Lösung von Traubenzucker dagegen entstand nach 4 Tagen eine schwache Trübung, die bis zum 10. Tage stärker wurde, dann aber wieder allmählich verschwand.

Untersuchte man am 5. oder 6. Tage die trübe Lösung, so fand man in ihr isolirte Coccen, Diplococcen und einzelne kurze Ketten.

Die Bewegung sämmtlicher Formen war äusserst schwach.

Die Grösse der Coccen betrug: 0,4 μ.

Neben diesen Coccen traf man solche, die ungemein stark angeschwollen waren und fast keine Bewegung zeigten. Dieselben erreichten eine Grösse von 1,78 μ und waren fast ausnahmslos sehr stark lichtbrechend. Offenbar lagen hier Dauersporen des Pilzes vor.

Um mich hiervon zu überzeugen, machte ich folgenden Versuch: Agar-Agar mit Pepton wurde mit dem Pilz infizirt und zur Entwickelung zunächst einer Temperatur von + 22,5° C. ausgesetzt.

Nach 2 Tagen hatten die intensiv gelb gefärbten Kolonien eine Grösse von 3 mm. erreicht und bestanden aus isolirten Coccen, Diplococcen und Streptococcen.

Die Coccen erreichten eine Grösse von 0,5—0,8 μ. Diese so zur Entwickelung gebrachten Kolonien setzte ich dem Einfluss einer Temperatur von + 36° aus.

Nach 2 Tagen fanden sich neben den gewöhnlichen Coccen wieder stark angeschwollene.

Diese Anschwellung erstreckte sich nicht allein auf die isolirten Coccen, sondern auch auf solche in Verbänden enthaltenen, und zwar war bei den Diplococcen entweder nur ein oder auch beide, bei den Kettenverbänden in der Regel nur ein Coccus angeschwollen.

Die isolirten verhielten sich durchgehends ruhig, während die mit anderen verbundenen oft noch schwache Bewegung zeigten.

Nach 4 Tagen traten in diesen Coccen scharf contourirte stark lichtbrechende Körperchen auf, die in ihrem Aussehen Aehnlichkeit mit kleinen Fetttröpfchen hatten.

Am 6. Tage erschienen die inzwischen völlig zur Ruhe gelangten Formen in ihrem ganzen Umfange stark lichtbrechend und scharf contourirt. Bei den isolirten fraglichen Zellen konnte man noch erkennen, dass eine schwach lichtbrechende, wenig scharf umgrenzte schleimige Masse (Reste der Mutterzellenmembran) sie umschloss.

Die Grösse dieser Coccen betrug 1,6—1,78 μ.

Auch bei der Darstellung gefärbter Deckglaspräparate zeigten die erwähnten angeschwollenen Formen den gewöhnlichen gegenüber eine Verschiedenheit, indem sie erst bei Anwendung höherer Temperatur Farbstoff annahmen.

Es zeigen also diese angeschwollenen Coccen alle Eigenschaften der sogenannten Dauersporen der Spaltpilze.

Neben diesen auf endogenem Wege entstandenen Sporen fanden sich stets noch vegetative Kugelzellen, die entweder isolirt oder in den bekannten Verbänden auftraten, vor.

Ganz dieselben Resultate erhielt ich auch bei Kulturen auf anderen Nährmedien, sobald nur erst die Kolonien bei + 22,5° C. zur Entwickelung gebracht wurden.

Meine fernere Aufgabe war, nun diese Dauersporen auch wieder zur Entwickelung zu bringen.

Zu diesem Zweck nahm ich auf Hühnereiweiss gezogene Kulturen, die auch sicher fertig ausgebildete Sporen enthielten, und tödtete durch ½stündiges Erhitzen auf + 100° — was in einem Wasserbade geschah — sämmtliche vegetative Coccen.

Von dem so vorbereiteten Material übertrug ich Spuren auf Agar-Agar mit Pepton und setzte die Gläser verschiedenen Temperaturen, die zwischen + 22,5° C. und + 35° C. gelegen waren, aus.

In zwei Fällen gelangten die Sporen bei + 27° C. zur Keimung und liessen normale Kolonien entstehen. Alle übrigen Versuche waren aber von negativen Erfolgen begleitet. Später nochmals angestellte Versuche, Sporen bei + 27° C. zur Keimung zu bringen, lieferten ein schlechtes Resultat, indem von fünfzehn angesetzten Kulturen nur drei zur Entwickelung gelangten. Leider gelang es mir nicht trotz der grössten Mühe, die ich mir gab, den Grund der Misserfolge aufzudecken.

Das Resultat dieses vorstehend beschriebenen Versuches ist folgendes:

1. Eine Temperatur von + 36° C. ist zur Weiterentwickelung der vegetativen Formen des Pilzes ungeeignet; unter dem Einflusse gedachter Temperatur besitzt der *Micrococcus ochroleucus* vielmehr das Vermögen auf endogenem Wege sog. Dauersporen zu bilden.
2. Die Keimtemperatur für diese Sporen liegt bei + 27° C.
3. Das Sporenbildungsvermögen, sowie die Keimung der Sporen bewegen sich innerhalb sehr eng gezogener Grenzen, zwischen + 27 und 36° C.

4. Einfluss höherer Temperaturen: + 60—100° C.

Diese Versuche führte ich so aus, dass ich Kulturen auf Hühnereiweiss bei + 22,5° C. zur kräftigen Entwickelung brachte und dann kürzere oder längere Zeit der Einwirkung der betreffenden Temperatur aussetzte.

Ich benützte bei diesen Versuchen ausschliesslich Wasserbäder, deren Niveau stets höher gehalten wurde als der Inhalt der Kulturgefässe war.

Durch eingesetzte Thermostaten wurde die Temperatur genau regulirt.

Die Ergebnisse dieser Versuche weisen darauf hin, dass nicht allein die Höhe der Temperatur, sondern auch die Dauer der Einwirkung derselben von wesentlichem Einflusse ist.

In sämmtlichen Versuchen brachte ich den Pilz zum Absterben und zwar erfolgte dasselbe

bei einer Temperatur von + 60° C. nach sechsstündiger,
bei einer Temperatur von + 75° C. nach zweistündiger,
bei einer Temperatur von + 90° C. nach halbstündiger

Einwirkung der Temperatur.

Bei sämmtlichen auf diese Weise getödteten Kulturen hatten sich die die Kolonien erzeugenden Coccen, Diplococcen und Ketten während des Absterbens zu unregelmässig geformten Haufen zusammengezogen.

Fasst man die Resultate der zweiten Versuchsreihe zusammen, so lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. Für den *Micrococcus ochroleucus* liegt
   das Temperaturminimum bei + 6—8° C.
   das Temperaturoptimum bei + 22,5° C.
   das Temperaturmaximum bei + 36° C. oder wenig darüber.
2. Die niedere Temperatur von + 6—8° C. verzögert nicht allein das Wachsthum des Pilzes, sondern lässt auch die vegetativen Kugelzellen nicht ihre volle Grösse erreichen.
3. Bei einer constant einwirkenden Temperatur von + 36° findet ein Wachsthum des Pilzes nicht statt, sondern auf endogenem Wege bildet derselbe „Dauersporen", die ihrerseits bei + 27° C. wieder zur Keimung gebracht werden können.
4. Gegen höhere Temperaturen ist der *Micrococcus ochroleucus* ziemlich empfindlich.

Drittens: **Einfluss des Lichtes.**

In dieser dritten Versuchsreihe suchte ich den Einfluss des Lichtes auf das Wachsthum und die Farbstoffproduction des *Micrococcus ochroleucus* zu ermitteln. Zu diesem Zwecke traf ich die Versuchsanordnung so, dass ich in der 1. Reihe den Pilz bei völligem Lichtabschluss zur Entwickelung zu bringen suchte. In der 2. Reihe liess ich den Pilz unter dem Einflusse diffusen Tageslichtes wachsen und in der 3. Reihe endlich liess ich direktes Sonnenlicht auf die Kulturen einwirken.

Als Nährboden nahm ich in allen 3 Fällen hartgekochtes Hühnereiweiss, das durch verdünntes Ammoniak schwach alkalisch gemacht worden war.

Die Versuche selbst führte ich bei gewöhnlicher Zimmertemperatur (ca. + 20° C.) durch.

1. Einfluss gänzlichen Lichtabschlusses.

Um einen völligen Lichtabschluss zu erzielen, umklebte ich die betreffenden Kulturgefässe mit schwarzem Papier und ausserdem schloss ich sie in Holzfutterale ein.

24 Stunden nach der Impfung fanden sich farblose Kolonien ein, die sich in der Folge stark ausbreiteten und schliesslich als weisse Schleimmassen das ganze Substrat überzogen.

Am 8. Tage begann der Pilz das Substrat aufzulösen und bis zum Schluss des Versuches hatte er dasselbe in eine zähflüssige schmierige Masse umgewandelt.

Wurden Spuren dieses weissen Schleimes auf frische Stückchen Hühnereiweiss übertragen und dieselben dem Einflusse diffusen Tageslichtes ausgesetzt, so entwickelten sich Kolonien mit intensiv schwefelgelber Färbung.

In den ungefärbten Schleimmassen erschienen bei den mikroskopischen Untersuchungen lebhaft sich bewegende isolirte Coccen, Diplococcen und Streptococcen.

Grösse der Coccen: 0,5—0,8 μ.

2. Einfluss diffusen Tageslichtes.

Während der Ausführung dieser Versuche wurden die Fensterscheiben in dem betreffenden Arbeitszimmer mit weissem ölgetränkten Papier überklebt, wodurch erzielt wurde, dass in dem Zimmer ein mattes diffuses Licht herrschte.

Die ersten Wachsthumserscheinungen traten 24 Stunden nach der Infection ein und äusserten sich dadurch, dass farblose Kolonien die Impfstellen bedeckten.

Doch schon am 2. Tage begannen sich dieselben zu färben und jetzt schnell weiter wachsend überzogen sie als schwefelgelbgefärbter Schleim das Substrat, welches ungemein stark vom Pilz angegriffen, schliesslich zu einer zähflüssigen, stark alkalisch reagirenden Masse aufgelöst wurde.

Die Bestandtheile der Kolonien waren in diesem Versuche gleichfalls wieder lebhaft sich bewegende isolirte Coccen, Diplococcen und Ketten.

Grösse der Coccen: 0,5—0,8 μ.

3. Einfluss direkten Sonnenlichtes.

Die Zeit, in der dieser 3. Versuch zur Ausführung kam, zeichnete sich durch eine ununterbrochene Reihe sonnenheller Tage aus. (Mitte Mai bis Mitte Juni 1886.)

Die Aufstellung der betreffenden Kulturgefässe geschah derart, dass dieselben von ca. $10\frac{1}{2}$—11 Uhr Morgens an bis 7 Uhr Abends dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt waren.

Anfänglich war der Verlauf des Wachsthums ein ebenso lebhafter, wie im vorhergehenden Versuche. Doch bald machte sich ein grosser Uebelstand bemerkbar; es trocknete nämlich das Substrat unter Einwirkung des direkten Sonnenlichtes bei vielen Präparaten ungemein

rasch aus und dann gingen wegen Mangel an genügender Feuchtigkeit die Kulturen ein.

Ich wiederholte nun den Versuch, nahm aber an Stelle des Hühnereiweisses eine Lösung von 3% trockenen Pepton
0,5% Liebig'schem Fleischextrakt
0,5% Traubenzucker.

Diesmal war der Verlauf der Versuche von Anfang bis Ende ganz derselbe wie bei Einwirkung diffusen Lichtes. S. o. Seite 427.

An der Oberfläche der Lösung entstand eine dünne hellgelbgefärbte Schleimschicht und die Lösung selbst wurde durch die Thätigkeit des Pilzes ziemlich stark getrübt.

Die Schleimschicht sowie die Trübung der Lösung wurde erzeugt von beweglichen Coccen, Diplococcen und Streptococcen.

Grösse der Coccen: 0,5 μ.

Die Resultate dieser 3. Versuchsreihe ergaben:

1. Das Licht übt auf die Form, die Grösse und den Verband der vegetativen Kugelzellen keinen Einfluss aus.
2. Die Farbstoffproduction ist bedingt durch den Zutritt des Lichtes und zwar derartig, dass dieselbe bei diffusem Tageslicht und bei directem Sonnenlicht sehr energisch stattfindet, dass sie aber bei völliger Dunkelheit unterbleibt.

Es haben sonach die obigen Versuche ergeben, dass der *Micrococcus ochroleucus*

1. unter allen Ernährungsverhältnissen seine Kugelform beibehält;
2. dass derselbe bei Einwirkung einer constanten Temperatur von + 36° C. sog. Dauersporen bildet;
3. dass bei Lichtabschluss die Pigmentabscheidung unterbleibt.

Vorstehende Untersuchungen wurden im botanischen Laboratorium des Herrn Professors Dr. Harz in München ausgeführt.

Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Professor Dr. Harz für das meiner Arbeit in reichstem Maasse zugewandte Interesse und für das mir stets erwiesene Wohlwollen an dieser Stelle meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Figuren-Erklärung.

Tafel XVII.

Fig. I. Coccen und Diplococcen vom *Micrococcus ochroleucus*.

„ II[1]). Kettenverbände sog. Torula- oder Streptococcusform des *Micrococcus ochroleucus*.

„ III[2]). Haufenverbände des *Micrococcus ochroleucus*.

(Sämmtlich mit Seubert'schem Immersionssystem VIIb und electrischem Licht vom Verfasser aufgenommen und bei der Verlagsanstalt für Kunst und Wissenschaft von F. Bruckmann in München in Lichtdruck wiedergegeben.)

---

[1]) [2]) Die noch vorhandenen Schleimmassen lassen bei den meisten Ketten und Haufen die Zusammensetzung aus Coccen nicht erkennen.

Druck von Robert Nischkowsky in Breslau.

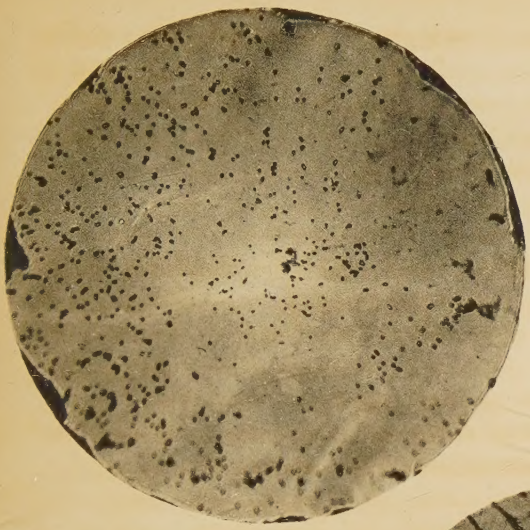

Fig. 1.

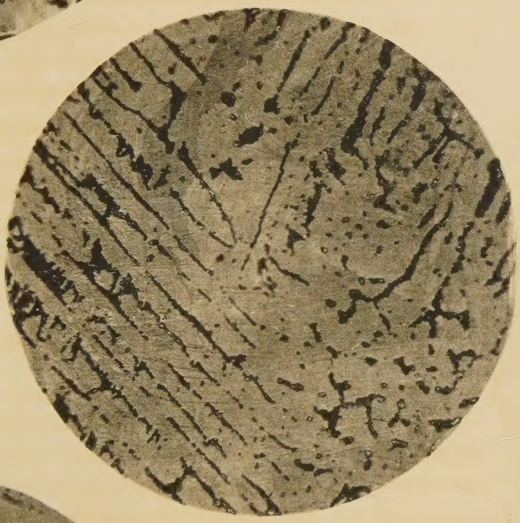

Fig. 2.

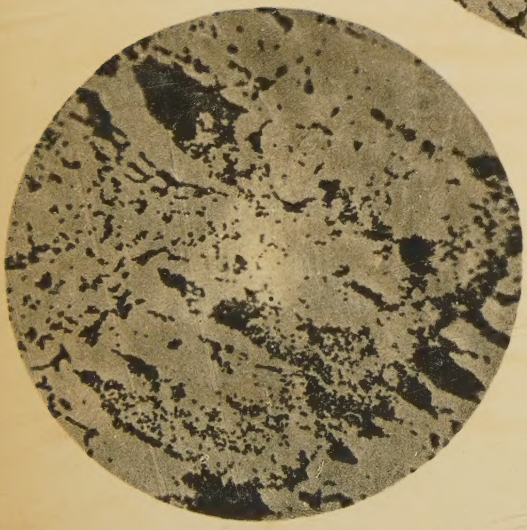

Fig. 3.

Druck von R. Nischkowsky in Breslau.